

Ca(NO₃)₂ 对 NaCl 胁迫下木麻黄扦插苗生理特征的调控

梁 洁, 严重玲*, 李裕红, 张瑞峰, 朱 珠

(厦门大学生命科学学院, 厦门 361005)

摘要: 用不同浓度 Ca(NO₃)₂ · 4H₂O (0.7, 1.4, 2.1 g Ca²⁺ /kg 土) 对 1 年生的处在两种 NaCl 胁迫 (10 和 20g/kg) 处理下的木麻黄扦插苗进行化学调控, 研究硝酸钙盐加氯化钠处理的木麻黄幼苗的生长量、木麻黄幼苗抗氧化酶系统活性和渗透调节物质的含量的变化, 研究结果表明: 中度 NaCl 胁迫加硝酸钙处理下的木麻黄扦插苗的可溶性蛋白质含量增加, MDA 含量降低说明膜脂过氧化作用减轻, 而且抗氧化酶活性 (SOD、POD) 之间协调变化有利于提高清除自由基的速率, 中度盐胁迫下钙盐可以促进木麻黄体内脯氨酸的积累; 但重度 NaCl 胁迫下钙盐对木麻黄的调控作用不显著, 重度盐胁迫下钙盐反而降低木麻黄 SOD、POD 活性和脯氨酸的含量, 减弱了抗氧化酶系统对活性氧的清除作用, 同时高浓度钙盐还会加重 NaCl 胁迫对木麻黄幼苗的损伤, 这说明适量的钙盐有利于木麻黄幼苗抵抗盐胁迫能力的提高, 而高浓度钙盐则可能会加重盐胁迫。

关键词: NaCl 胁迫; 膜保护酶; 脯氨酸; 钙盐调控

Effect of Ca(NO₃)₂ on phyecological characteristics in *Casuarina equisetifolia* cutting seedlings under NaCl stress

LIANG Jie, YAN Chong-Ling*, LI Yu-Hong, ZHANG Rui-Feng, ZHU Zhu (School of Life Science, Xiamen University, 361005, China). Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(5): 1073~ 1077.

Abstract A regulation effect of calcium nitrate on clone seedlings of *Casuarina equisetifolia* under NaCl stress was made in pots, with two NaCl concentrations of 10g, 20g NaCl/kg soil and three Ca(NO₃)₂ concentrations of 0.7g, 1.4g, 2.1g Ca²⁺ /kg soil, and treatments with pure NaCl without Ca(NO₃)₂ as control. Each pot was watered respectively with 1L corresponding salt solution every 6 days. To avoid too high stress causing the death of seedlings, the salt of each treatment was added into each pot in 30 days respectively, there were five pots in each treatment. The proline content, biomass, the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) of the seedlings in different experiments were determined and calculated after 60 days.

Under NaCl stress and regulation effect of calcium nitrate, the activities of cell defense enzymes, lipid peroxidation and accumulation of osmolyte of *Casuarina equisetifolia* seedlings were analyzed and differences between treatments were compared. The experimental results showed that under mid NaCl stress (10‰ NaCl concentration) and calcium effect, the soluble protein content raised slowly with the increasing of Ca²⁺ concentration, the antioxidant enzymes activities of SOD、POD had similar trend in the plants, both of them took a trend of increasing firstly then decreasing with the increasing of Ca²⁺ concentration, the highest activities appeared when Ca²⁺ concentration was 0.7g/kg in soil. At the same time, malondialdehyde (MDA) content decreased firstly then increasing, showing the dissimilar trend to the activities of SOD and POD. But the MDA content in the plants with regulation effect of Ca(NO₃)₂ was lower than the control, which implied that the membrane lipid peroxidation and oxidative injure lightened. Free proline accumulation with calcium treatment was higher than that of the control (under 10‰ NaCl treatment). To *Casuarina equisetifolia* seedling under high NaCl stress (10‰ NaCl concentration),

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170190); 福建省自然科学基金资助项目 D0120001)

收稿日期: 2003-06-23; 修订日期: 2004-03-14

作者简介: 梁 洁 (1978~), 女, 壮族, 广西上林人, 硕士生, 主要从事污染生态学研究, E-mail: liangjie6@hotmail.com

* 通讯作者 Author of correspondence, E-mail: ycl@xmu.edu.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 30170190) and Natural Science Key Foundation of Fujian Province (No. D0120001)

Received date: 2003-06-23; **Accepted date:** 2004-03-14

Biography: LIANG Jie, Master candidate, mainly engaged in plant ecology. E-mail: liangjie61@163.com

the proper Ca^{2+} concentration was 0.7g/kg soil

The result showed there was no significant difference between treatments B (0.7g, 1.4g, 2.1g Ca^{2+} + 20g NaCl/g soil) and treatment A (0.7g, 1.4g, 2.1g Ca^{2+} + 10g NaCl/g soil). Compared with the seedlings under mid NaCl stress, the regulation effect of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ on the *Casuarina equisetifolia* seedling under high NaCl stress (20‰ NaCl concentration) was not significant. All the physiological characteristics of seedling under high NaCl stress (10‰ NaCl) were lower than those of mid NaCl stress (20‰ NaCl). The biomass and the activities of SOD, POD and free proline content of the plants under 20‰ NaCl treatments increased a little as the increasing of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ concentration. Under Ca^{2+} 1.4g/kg treatment, activities of SOD and POD were the highest, respectively. But when Ca^{2+} concentration rose to 2.1g/kg, the characteristics such as the biomass, activities of SOD and POD and proline content were the lowest, and MDA content was increasing. It implied that the antioxidative enzymes were damaged by high salt stress, so the process of scavenging oxygen free radicals was slower and active oxygen was accumulated in cells.

All results indicated that proper Ca^{2+} concentration could be selected to enhance the salt tolerance abilities of *Casuarina equisetifolia* cutting seedlings, but a high Ca^{2+} concentration would exacerbate salt stress and aggravate the damage of *Casuarina equisetifolia* seedlings under NaCl stress.

Key words: NaCl stress; antioxidant enzymes; proline; regulation effects

文章编号: 1000-0933(2004)05-1073-05 中图分类号: Q 945.79, Q 948, S718.45 文献标识码: A

木麻黄(*Casuarina equisetifolia*)原产澳大利亚昆士兰沿海地区及马来西亚、菲律宾等太平洋群岛热带地区,生长在沙丘、沙质平原及靠海的缓坡上,是目前我国南方沿海防护林的主栽树种。木麻黄是我国东南沿海抗性和耐盐性较强的树种,并且作为固氮树种也是混农林系统(Agroforestry system)的主要树种之一。滨海沙土由于严重的盐胁迫而造成木麻黄的退化现象很常见,木麻黄用于重盐碱地造林面临着盐害的问题,而提高木麻黄在滨海盐土的成活率及生长量通常有两种方法,一是土壤降盐,二是提高木麻黄的耐盐性,前者耗时废工,可操作性较小,而通过化学调控的方法直接提高木麻黄抗性,扩大木麻黄的适应性,并可推广到其他植物。有研究报道外源 Ca^{2+} 可以增强植物的抗性,这已在大麦、小麦、大豆、黄瓜、玉米等植物中得到证实^[1,2],但利用硝酸钙提高木本植物的耐盐性还鲜见报道。本文采用硝酸钙作为缓解措施主要两个原因:(1)由于木麻黄根部有大量根瘤菌自身可以固氮,氮源对于木麻黄而言并不缺乏;(2)若添加 CaCl_2 会加重 NaCl 胁迫而造成调控效应不明显;所以本文研究为了提高木麻黄耐受强度盐胁迫能力,施加不同浓度外源 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$,研究盐胁迫下硝酸钙对木麻黄膜保护酶系统活性和细胞中游离脯氨酸含量的影响,探索外加硝酸钙能否增强木麻黄的耐盐性以及寻求外源 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 的适宜浓度。为生产实践上大量应用木麻黄绿化海涂,提高木麻黄耐盐性提供科学理论依据。

1 材料与方

1.1 材料和胁迫处理

供试材料为普通木麻黄(*Casuarina equisetifolia*):惠安一号,产于惠安赤湖林场。于2002年1月取1年生的3~4cm木麻黄枝条扦插,生根后栽入容器袋,3个月后移栽入直径25cm的陶盆中,每盆栽园土5kg,每盆栽3棵木麻黄小苗,温室中培养,缓苗5个月,此时木麻黄苗高度约为50cm,进行60d的NaCl胁迫处理和钙盐调控,处理设3个钙盐浓度(4、8、12g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ /kg土分别相当于0.7、1.4、2.1g Ca^{2+} /kg土)和2个NaCl浓度(10、20g NaCl/kg土相当于10‰、20‰盐度),以不加 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 只加NaCl为对照,共8个处理,每个处理5个重复,实验设计见(表1)。为了避免一次性加入过多盐造成木麻黄幼苗的死亡,所有处理组的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和NaCl均分5次于30d内加入,并且在陶盆外加套一个塑料盆防止盐分流失,保持土壤湿润,最终土壤浓度达到预定盐度。处理60d后测定木麻黄幼树高度、幼苗膜脂过氧化程度、抗氧化酶系活性和游离脯氨酸含量。

1.2 测定方法

木麻黄扦插苗生长量测定 分别测量8组处理中全部木麻黄扦插苗处理前后的高度,计算木麻黄扦插苗在60d的伸长量,并求每组处理生长量的平均值。

酶液制备 取1克木麻黄扦插苗小枝,加入10ml

表1 NaCl胁迫和硝酸钙调控的试验设计

Table 1 Concentrations of NaCl and Ca^{2+} treatments in the experiments

| 处理 Treatment | NaCl浓度(g/kg) NaCl concentration | Ca^{2+} (g/kg) Ca^{2+} concentration |
|-----------------|------------------------------------|---|
| 0 (对照 Control) | 10 | 0 |
| A | 1 | 0.7 |
| | 2 | 1.4 |
| | 3 | 2.1 |
| 0 (对照 Control) | 20 | 0 |
| B | 1 | 0.7 |
| | 2 | 1.4 |
| | 3 | 2.1 |

62.5 mmol/L 含 3% PV P 的磷酸缓冲液 (pH 7.8) 于冰浴研磨, 4 下 10500 \times g 离心 15 min, 上清液用于丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 的活性、可溶性蛋白质含量的测定^[13]。

丙二醛 (MDA) 测定 ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ FW) 参照 Ohkawa 等法测定硫代巴比妥反应物 (TBARS)^[14]。

超氧化物歧化酶 (SOD) 测定 (U/mg protein) 采用氨基蓝四唑 NBT 光还原法^[5], 以抑制 NBT 光还原 50% 作为一个酶单位 U。

POD 活性测定 采用愈创木酚^[6], 以每分钟改变 0.001 OD 值为一个酶活性单位, 酶活性以 $\text{U}/(\text{min} \cdot \text{mg}$ protein) 表示。

可溶性蛋白质含量测定 (mg/g FW) 按照考马斯亮蓝 G-250 染色法^[7]。

游离脯氨酸 (proline) 含量 ($\mu\text{g}/\text{g}$ FW) 取 0.3 g 新鲜木麻黄小枝, 采用酸性茚三酮法^[8]测定。

1.3 试验数据的处理和方差分析用 Microsoft Excel 软件完成。

2 结果与分析

2.1 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对 NaCl 胁迫下的木麻黄扦插苗各种生理生态指标的调控

2.2.1 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对 NaCl 胁迫下的木麻黄扦插苗生长量的影响 从图 1 可见, 钙盐对在中度 NaCl 胁迫 (10 g/kg) 下的木麻黄幼苗的生长有一定影响, 在土壤中加入硝酸钙浓度为 0.7 g Ca^{2+}/kg 土为对木麻黄最有利, 处理 60d 木麻黄伸长量比不加硝酸钙的对照组的多 4.0 cm, 即提高生长量达 21%; 但当硝酸钙含量增加, 木麻黄幼苗伸长量降低, 说明过高浓度的钙盐会抑制木麻黄的生长。而钙盐对重度 NaCl 胁迫 (20 g/kg) 下木麻黄扦插苗生长的调控作用较小, 图 1 表示在 20 g/kg NaCl 浓度下, 木麻黄幼苗的生长已经受到强烈抑制, 生长量仅为中度 NaCl 胁迫下木麻黄生长量的 50%, 在土壤中硝酸钙浓度为 1.4 g Ca^{2+}/kg 时, 木麻黄幼苗生长稍有增加, 使生长量提高 18%。

2.2.2 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对 NaCl 胁迫下木麻黄扦插苗可溶性蛋白质含量的影响 植物细胞内可溶性蛋白质含量影响着细胞内渗透势的大小。从图 2 可知, 中度 NaCl 胁迫下木麻黄幼苗小枝内可溶性蛋白质含量小于重度 NaCl 胁迫下木麻黄幼苗, 而且不管在中度还是重度 NaCl 胁迫下, 木麻黄幼苗体内可溶性蛋白质含量都随着硝酸钙浓度增加而逐渐升高。在盐胁迫条件下, 植物处于渗透胁迫下, 能否从外界吸收足够的水分取决于细胞内渗透势的高低, 渗透势越低, 越有利于植物细胞吸收水分, 而木麻黄幼苗细胞内可溶性蛋白质含量增加可以降低渗透势, 有利于其在盐胁迫环境下生存, 尤其是高盐度胁迫情况下。

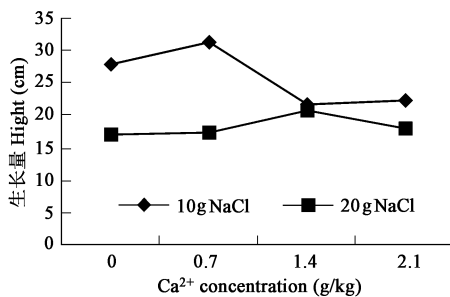


图 1 钙盐对 NaCl 胁迫下木麻黄幼苗生长的影响

Fig. 1 Effect of Ca^{2+} on height of *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

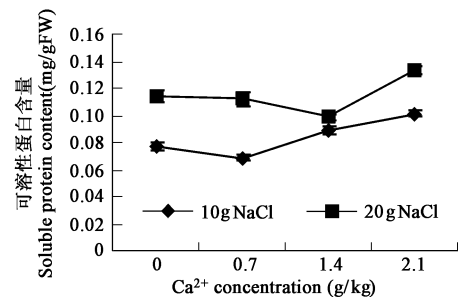


图 2 钙盐对 NaCl 胁迫下木麻黄蛋白质含量的影响

Fig. 2 Effect of Ca^{2+} on soluble protein contents on *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

2.2.3 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对 NaCl 胁迫下木麻黄扦插苗 MDA 含量的影响 MDA (丙二醛) 是膜脂过氧化的产物, 其含量反映膜脂过氧化程度^[9]。从图 3 可见, 不论在中度还是重度 NaCl 胁迫下, 钙盐都明显使木麻黄扦插苗中丙二醛含量发生变化, 木麻黄扦插苗细胞中 MDA 含量均在 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 浓度为 4 g/kg 和 8 g/kg 时显著降低, 仅为对照的 41% ~ 56%, 膜脂过氧化主要产物 MDA 含量减少了一半, 说明膜脂过氧化程度减轻; 但当硝酸钙浓度增加 12 g/kg 时, 木麻黄体内 MDA 含量又急剧升高。这说明了土壤中施加适量的钙盐可以缓解 NaCl 胁迫对木麻黄幼苗细胞膜结构的损害, 使膜脂过氧化程度减轻, 但如果土壤加入 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 过多结果又会适得其反。

2.2.4 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对 NaCl 胁迫下木麻黄扦插苗 SOD 活性的影响 从图 4 可看出, SOD 活性变化趋势与 MDA 含量变化趋势相反。重度 NaCl 胁迫木麻黄幼苗中 SOD 活性明显低于中度 NaCl 胁迫下木麻黄幼苗, 说明木麻黄虽然可以耐受一定盐度, 但当盐度过高, 木麻黄幼苗细胞膜的结构和功能受到很大损坏, SOD 无法象正常情况下受细胞内超氧化自由基所激活, 因此在高盐度下木麻黄幼苗中 SOD 活性保持在低水平。而处在中度 NaCl 胁迫下木麻黄幼苗细胞中 SOD 活性维持在较高水平, 并且在土壤硝酸钙浓度为 0.7 g Ca^{2+}/kg 时, SOD 活性升至最高点, 然后随钙盐含量增加而降低。这也说明了并非任何浓度的钙盐都能促进抗氧化酶系统活性的提高。

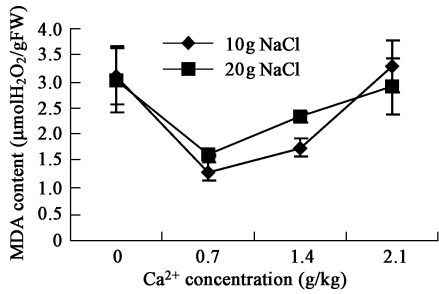


图3 钙盐对NaCl胁迫下木麻黄MDA的影响

Fig 3 Effect of Ca²⁺ on MDA contents of *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

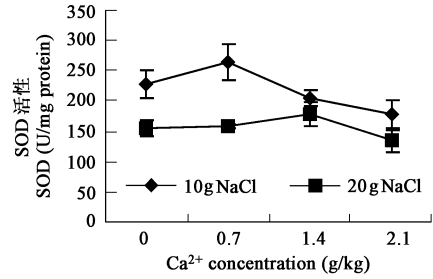


图4 钙盐对NaCl胁迫下木麻黄SOD活性的影响

Fig 4 Effect of Ca²⁺ on SOD activities of *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

2.2.5 Ca(NO₃)₂对NaCl胁迫下木麻黄扦插苗POD活性的影响 图5中钙盐调控下木麻黄幼苗POD活性的变化曲线与SOD活性的变化曲线非常相似,中度NaCl胁迫下木麻黄幼苗POD活性远高于重度NaCl胁迫,而且在土壤中Ca²⁺浓度为0.7g/kg时,中度NaCl胁迫下木麻黄幼苗POD活性达到最高点,随后POD活性下降,但3种浓度钙盐调控下的木麻黄幼苗POD活性均高于未加硝酸钙的对照组。这与钙盐调控下木麻黄幼苗中MDA含量变化趋势相反,当木麻黄幼苗POD活性最高时,MDA含量最低,这说明适量的Ca²⁺可以提高膜保护酶系SOD和POD的活性,有助于减缓膜脂过氧化程度。

2.2.6 Ca(NO₃)₂对NaCl胁迫下木麻黄幼苗游离脯氨酸含量的影响 从图6可见钙盐对中度NaCl胁迫下的木麻黄幼苗的调控表现在:土壤中施加Ca²⁺浓度0.7g/kg为时,木麻黄幼苗细胞内比对照组积累更多的脯氨酸,但Ca²⁺加入更多,木麻黄幼苗中游离脯氨酸含量稍有降低,但均高于对照;而在高盐胁迫下,木麻黄幼苗中游离脯氨酸含量随着钙盐浓度的增加而减少,在重度NaCl胁迫和高钙调控下木麻黄幼苗游离脯氨酸含量最低。推测脯氨酸作为渗透调节物质,主要功能在于缓解盐胁迫引起的渗透胁迫,而钙盐中的Ca²⁺是植物必需的大量元素,而且作为植物细胞信号传导的第二信使调节着生理代谢活动,它可以减轻Na⁺引起的离子毒害。在中度NaCl胁迫下,钙盐可以促进木麻黄幼苗体内合成和积累脯氨酸来降低细胞内的渗透势,提高木麻黄幼苗的耐盐性;重度NaCl胁迫下,木麻黄幼苗脯氨酸含量是正常情况下的10.6倍,但植物体内积累过多脯氨酸会影响蛋白质和氨基酸的正常代谢,并且会消耗大量能量而阻碍植物的生长,因此在钙盐调控下,脯氨酸含量有所降低,外源的钙和细胞内游离脯氨酸共同作用,缓解了重度NaCl胁迫对木麻黄幼苗的伤害。但高Ca²⁺不利于提高木麻黄渗透物质的合成。

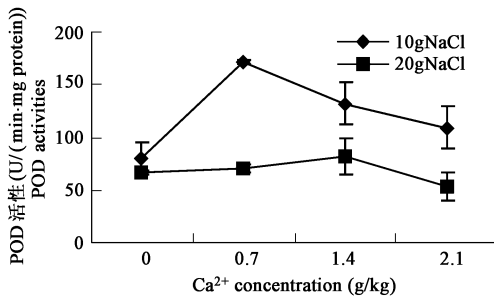


图5 钙盐对NaCl胁迫下木麻黄POD活性的影响

Fig 5 Effect of Ca²⁺ on POD activities of *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

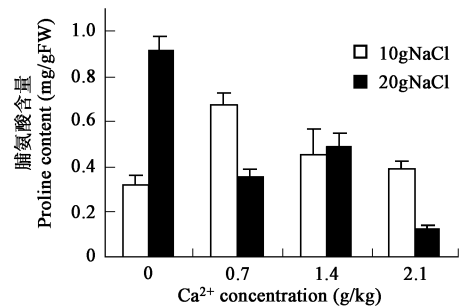


图6 钙盐对NaCl胁迫下木麻黄脯氨酸的影响

Fig 6 Effect of Ca²⁺ on free proline content of *Casurina* cutting seedlings under NaCl stress

3 讨论

盐害的原因是由于盐胁迫下膜脂过氧化作用加强,导致质膜透性加大,离子平衡失调,代谢紊乱,生长发育受到抑制。细胞壁和质膜上的结合钙,对于维持质膜稳定性具有重要作用^[10],一般认为Ca²⁺与细胞壁中的果胶酸钙,保护中胶层结构,同时它具有抑制多聚半乳糖醛酸酶(PG)活性的作用,减少细胞壁的分解;另外Ca²⁺可作为磷脂的磷酸根和蛋白质的所基间联结的桥梁,使膜结构更为牢固^[11,12]。由此看来钙是一种很好的膜保护剂。本文利用外源硝酸盐提高木麻黄的耐盐性,实验结果(图1~图6)表明,在10g/kg的中度NaCl胁迫下,加入0.7gCa²⁺/kg能明显增加木麻黄的生长量,MDA含量最低,SOD、POD活性和脯氨酸含量达到最高,CAT活性也有不同程度增加,说明适量钙盐能够诱导抗氧化酶系统活性的迅速增加以抵御逆境诱导的氧化胁迫,并间接促进游离脯氨酸在细胞内积累以抵御渗透胁迫,增强木麻黄的抵抗中度盐胁迫的能力,在另外的实验里,还发

现在 NaCl 胁迫下施加适量硝酸钙可以明显促进木麻黄小枝质膜 ATPase 酶活性的提高*。已有的研究报道也发现环境胁迫因子能引起植物细胞内 Ca^{2+} 浓度增加, 用 Ca^{2+} 处理可以改善植物幼苗的抗逆性, 增强植物对许多非生物逆境的适应性, 减轻逆境对植物所造成的伤害, 增强植物对冷害、高温、干旱、盐害等逆境因子的抵御能力^[13]。但在高盐胁迫下, 木麻黄幼苗处在生长缓慢, 体内生理代谢发生紊乱, 外源钙盐的作用不明显, 而且外源钙盐浓度过高非但不能提高木麻黄的耐盐性, 反而会加重盐胁迫对植物的伤害。

在 NaCl 胁迫条件下, Na^+ 取代细胞质膜上的 Ca^{2+} , 并且引起细胞内 Ca^{2+} 的外流, 影响细胞中 Ca^{2+} 含量。盐胁迫下补充 Ca^{2+} 可抑制 Na^+ 的吸收, 对维持植物细胞膜完整性和稳定性以及调节无机离子运输具有重要作用^[14]。 Ca^{2+} 能促进酶活性升高, 从而加强清除氧自由基和过氧化物的能力。但 Ca^{2+} 浓度增大, 却使酶活性有所降低, 说明 Ca^{2+} 促进酶活性升高的作用只限于一定范围内。细胞质中 Ca^{2+} , 当其浓度和分布在适当的范围内变化时, 会在植物对外界调节适应中起着积极的作用, 但当其变化超过一定的范围, 就会破坏和扰乱细胞正常的结构与功能, 如造成细胞骨架和膜结构的破坏, 并最终导致细胞内物质代谢的不平衡^[15]。

通过以上系统地研究和分析讨论可得出结论: 适量的 Ca^{2+} 可以提高木麻黄幼苗的耐盐性, 减轻盐胁迫对木麻黄幼苗造成的伤害。本文推荐外源 Ca^{2+} 的浓度为 $0.7\text{gCa}^{2+}/\text{kg}$ 土, 具体操作应根据实际情况确定。

References

- [1] Gong M, Chen S N, Song Y Q. Effect of calcium and calmodulin on intrinsic heat tolerance in relation to antioxidant systems in maize seedlings *Aust J. Plant Physiol.*, 1997, **23**: 371~ 379.
- [2] Zheng Q S, Wang R L, Liu Y L. Effect of Ca^{2+} on Absorption and Distribution of Ions in Salt-treated Cotton Seedlings *Acta Phytophysiologica Sinica*, 2001, **27**(4): 325~ 330
- [3] Sairam R K, Srivastava G C. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress, *Plant Science*, 2002, **162**: 897~ 904
- [4] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. A assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction *Anal Biochem.*, 1979, **95**: 351 ~ 366
- [5] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase purification and quantitative relationship with water solution protein seedling *Plant Physiol.*, 1977, **59**: 315~ 318
- [6] Wang B S, Zhao S Q. Effect of Drought Stress on Activities of Defense Enzymes and Membrane-lipid Peroxidation in Wheat Seedlings *Journal of Shandong Normal University (Natural Science)*, 1987, **2**: 29~ 39
- [7] Bradford M M, A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding *Anal Biochem.*, 1976, **72**: 248~ 254
- [8] Zhu G L. *Plant Physiological Experiments* Beijing: Beijing University Press, 1990 249~ 251.
- [9] Chinta S, Lakshmi A, Giridarakumar S. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 2001, **161**: 613~ 619
- [10] Zhang B Y. Effects of $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ and CaCl_2 on the Salt Tolerance of Wheat Seedlings under Salt Stress *Chinese Bulletin of Botany*, 1997, **14**(4): 48~ 50
- [11] Bush D S. Regulation of cytosolic calcium in plants *Plant Physiol.*, 1993, **160**(103): 7~ 13
- [12] Li M R, Liu H X, Wang Y R, et al. Effect of Calcium on the Cold-resistance of Rice Seedlings *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1996, **22** (4): 379~ 384
- [13] Zhang Z S, Li R Q, Wang J B. Effect of Ca^{2+} Pretreatment on the Ca^{2+} -ATPase Activity in the Mesophyll Cells of Pepper Seedling under Heat Stress *Acta Phytophysiologica Sinica*, 2001, **27**(6): 451~ 454
- [14] Lahaye P A, Epstein E. Salt Tolerance Byplant: Enhancement with Calcium. *Science*, 1969, (166): 395~ 407.
- [15] Ding Y L, Liao Q L, Xie C T, et al. Changes of the Level of Ca^{2+} in Leaf Cells of *Pritchardia gaudichaudii* H. Wendl. under Low Temperature Stress *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2002, **41**(Sup. 5): 679~ 682

参考文献

- [2] 郑青松, 王仁雷, 刘友良. 钙对盐胁迫下棉苗离子吸收分配的影响 *植物生理学报*, 2001, **27**(4): 325~ 330
- [6] 王宝山, 赵思齐. 干旱对小麦幼苗膜脂过氧化及保护酶的影响 *山东师范大学学报(自然科学版)*, 1987, (2): 29~ 39
- [8] 朱广廉. *植物生理学实验* 北京: 北京大学出版社, 1990 249~ 251.
- [10] 张宝译. 盐胁迫下不同的钙盐对小麦幼苗耐盐性的影响 *植物学通报*, 1997, **14**(4): 48~ 50
- [12] 李美茹, 刘鸿先, 王以柔, 等. 钙对水稻幼苗抗冷性的影响 *植物生理学报*, 1996, **22**(4): 379~ 384
- [13] 张宗申, 利荣干, 王建波. Ca^{2+} 预处理对热胁迫下辣椒叶肉细胞中 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响 *植物生理学报*, 2001, **27**(6): 451~ 454
- [15] 丁印龙, 廖启, 谢潮添, 等. 低温胁迫下夏威夷椰子幼苗叶肉细胞 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构变化的研究 *厦门大学学报(自然科学版)*, 2002, **41**(5): 679~ 682

* 数据待发表